

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-122600

(43)Date of publication of application : 26.04.2002

(51)Int.Cl.

G01N 33/543

G01N 5/02

G01N 21/01

G01N 21/05

G01N 21/27

(21)Application number : 2000-311620

(71)Applicant : NIPPON LASER & ELECTRONICS LAB

(22)Date of filing : 12.10.2000

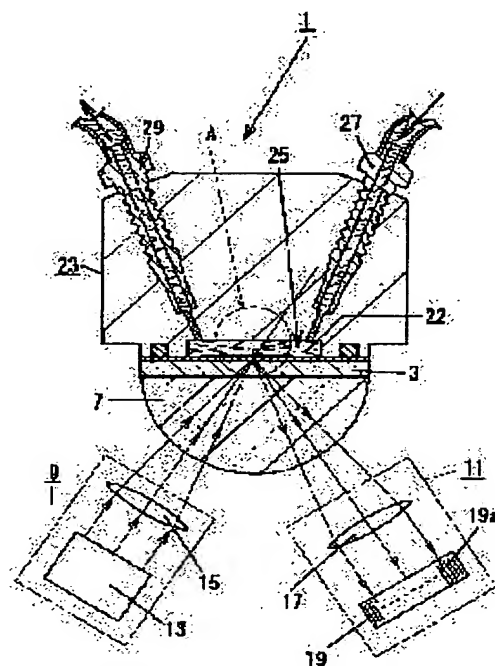
(72)Inventor : YOMO TETSUYA
FUKAO YASUHIRO
SATO TAKATO

(54) SENSOR CHIP FOR BIOSENSOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a sensor chip for biosensor in which a substance in the humor of an organism can be detected repeatedly with high accuracy while reducing the detection cost regardless of the external environment in the detection process.

SOLUTION: The sensor chip in a biosensor for capturing a substance in the humor of an organism has positive and negative electrodes arranged relatively at a specified interval. A chip material composed of a substance being detected is placed on the negative electrode while being insulated electrically and under a state where an organic or inorganic material gas is introduced into a reaction container containing the chip material and regulated to a specified gas pressure, a voltage is applied between the positive and negative electrodes to generate glow discharge. Organic or inorganic substance in the material gas, in the form of plasma, is deposited on the chip material to form a film and then the chip material is dissolved and removed to form a recess matching the substance being detected.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-122600

(P2002-122600A)

(43)公開日 平成14年4月26日(2002.4.26)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード(参考)
G 0 1 N 33/543	5 9 5	G 0 1 N 33/543	5 9 5 2 G 0 5 7
5/02		5/02	A 2 G 0 5 9
21/01		21/01	B
21/05		21/05	
21/27		21/27	C

審査請求 未請求 請求項の数5 O L (全 7 頁)

(21)出願番号 特願2000-311620(P2000-311620)

(22)出願日 平成12年10月12日(2000.10.12)

(71)出願人 000230467

日本レーザ電子株式会社

名古屋市熱田区三本松町20番9号

(72)発明者 四方 哲也

大阪府豊中市新千里東町2-4-D3-

106

(72)発明者 深尾 泰弘

名古屋市熱田区三本松町20番9号 日本レ

ーザ電 子株式会社内

(74)代理人 100081466

弁理士 伊藤 研一

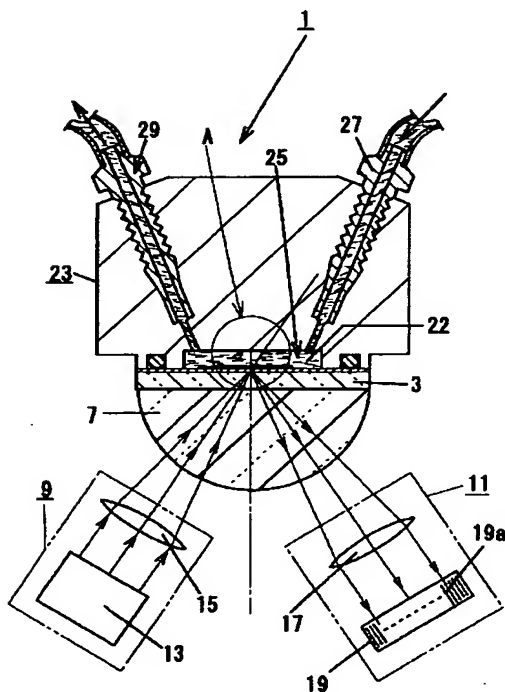
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 バイオセンサー用センサーチップ

(57)【要約】

【課題】生体成分液中の被検出物質を高い精度で検出することができるバイオセンサー用センサーチップを提供する。繰返し検出することができ、検出コストを低減することができるバイオセンサー用センサーチップを提供する。検出過程における外部環境に影響されずに高精度に被検出物質を検出することができるバイオセンサー用センサーチップを提供する。

【解決手段】バイオセンサーにおいて生体成分中の目的とする被検出物質を捕捉して検出するセンサーチップは陽電極及び陰電極が所定の間隔において相対配置され、該陰電極上に被検出物質からなるチップ素材が電気的絶縁状態で配置された反応容器内に有機又は無機化合物の原料ガスを導入して所定のガス圧に調整した状態で陽電極及び陰電極間に印加された電圧により発生するグロー放電により原料ガス中の有機又は無機物質をプラズマ化してチップ素材に付着堆積させて製膜した後、チップ素材を溶解除去して被検出物質に一致する凹部を有して形成する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体成分中の目的とする被検出物質をセンサーチップに捕捉して検出するバイオセンサーにおいて、センサーチップは陽電極及び陰電極が所定の間隔をおいて相対配置され、該陰電極上に被検出物質からなるチップ素材が電氣的絶縁状態で配置された反応容器内に有機又は無機化合物の原料ガスを導入して所定のガス圧に調整した状態で陽電極及び陰電極間に印加された電圧により発生するグロー放電により原料ガス中の有機又は無機物質をプラズマ化してチップ素材に付着堆積させて製膜した後、チップ素材を溶解除去して被検出物質に一致する凹部を有してなるバイオセンサー用センサーチップ。

【請求項2】 請求項1において、バイオセンサーはセンサーチップが固定される金属薄膜が製膜された基板と、金属薄膜と反対側の基板に密着されるプリズムと、基板と金属薄膜の境界に光を照射する光照射装置と、前記境界からの反射光を受光して光強度に応じた電気信号を出力する受光装置と、センサーチップに応じた大きさのフローセルを有して基板に密着され、フローセル内に被検出物質を含んだ試料液を供給して流通させるセルブロックとからなり、フローセル内を流通する試料液中の被検出物質がセンサーチップの凹部に捕捉されることによる誘電率変化に基づく表面プラズモン共鳴角により被検出物質を検出可能にしたバイオセンサー用センサーチップ。

【請求項3】 請求項1において、バイオセンサーは固有振動数で共振する水晶振動子と、該水晶振動子の一方側面に密着される第1電極板と、該水晶振動子の他方側面に密着され、センサーチップが固定される第2電極板とからなり、センサーチップに対する試料液のフローに伴って被検出物質がセンサーチップの凹部に捕捉された際の質量変化による周波数変位に基づいて被検出物質を検出可能にしたバイオセンサー用センサーチップ。

【請求項4】 請求項1において、原料ガスは四酸化オスミウムの昇華ガスとしたバイオセンサー用センサーチップ。

【請求項5】 請求項1において、原料ガスはメタン・エチレン混合ガスとしたバイオセンサー用センサーチップ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明が属する技術分野】 本発明は、生体成分（細胞、蛋白質、DNA、ホルモン等）の内から目的の被検出物質を検出するバイオセンサーに使用するセンサーチップに関する。

【0002】

【発明が解決しようとする課題】 例えば各種分析試験においては、生体成分から被検出物質を検出する際に、蛍光物質等の標識物質を使用することなく、リガンドの変

化を高感度に検出することができる表面プラズモン共鳴（SPR）を利用したバイオセンサーを使用している。

【0003】 該SPRバイオセンサーのセンサーチップとしては、ガラス基板上に成膜された金薄膜上に所望の被検出物質だけに結合する生理活性物質（細胞、蛋白質、脂質等）を担持させて構成している。

【0004】 そして合成繊維や天然繊維等からなる多孔性材料を形成し、該多孔性材料に所望の被検出物質だけに結合する酵素や抗体等の生理活性物質を担持させて構成している。

【0005】 そして金膜上にて被検出物質を含んだ生体成分液をフローすると、該被検出物質が生理活性物質に結合して質量が増大して誘電率が変化している。この誘電率の変化をSPR角により検出して被検出物質を検出している。

【0006】 また、同様の用途に使用される水晶振動子センサーにあっては、振動電極板に同様のセンサーチップを取り付け、生理活性物質と被検出物質の結合による質量変化により水晶振動子の振動数が変化することにより被検出物質の検出を可能にしている。

【0007】 しかし、何れのセンサーチップにおいても、被検出物質の検出に寄与する生理活性物質は、蛋白質の場合が多く、外部環境（温度・pH・緩衝能・イオン強度・補因子等）に大きく影響されて失活し易かった。このため、金表面に効率良く固定することができても、環境の影響や固定による立体構造変化により失活してしまい、被検物質を捕捉する効率が著しく低下してしまうのが現状であった。

【0008】 また、被検物質を捕捉するための生理活性物質は、大抵非常に高価な場合が多く、市販で入手できる量も少量であるのが実情であった。

【0009】 本発明は、上記した従来の欠点を解決するために発明されたものであり、その課題とする処は、生体成分液中の被検出物質を高い精度で検出することができるバイオセンサー用センサーチップを提供することにある。

【0010】 本発明の他の課題は、繰返し検出することができ、検出コストを低減することができるバイオセンサー用センサーチップを提供することにある。

【0011】 本発明の他の課題は、検出過程における外部環境に影響されずに高精度に被検出物質を検出することができるバイオセンサー用センサーチップを提供することにある。

【0012】

【課題を解決するための手段】 本発明は、生体成分中の目的とする被検出物質をセンサーチップに捕捉して検出するバイオセンサーにおいて、センサーチップは陽電極及び陰電極が所定の間隔をおいて相対配置され、該陰電極上に被検出物質からなるチップ素材が電氣的絶縁状態で配置された反応容器内に有機又は無機化合物の原料ガ

スを導入して所定のガス圧に調整した状態で陽電極及び陰電極間に印加された電圧により発生するグロー放電により原料ガス中の有機又は無機物質をプラズマ化してチップ素材に付着堆積させて製膜した後、チップ素材を溶解除去して被検出物質に一致する凹部を有したことを特徴とする。

【0013】

【発明の実施形態】以下、本発明の実施形態を図に従って説明する。

実施形態1

本実施形態は、SPRバイオセンサーに適用したもので、図1～図4において、SPRバイオセンサー1の一部を構成するガラス基板3の上面には金(Au)または銀(Ag)等の金属薄膜5が所定の膜厚(5～50nm)で成膜されている。

【0014】ガラス基板3の下面には光学屈折率がガラス基板3とほぼ等しい値(1.4～2.0)からなる半円筒プリズム7がマッチングオイル、シリコンゴムシート等により密着して取り付けられている。そして図示する半円筒プリズム7の中心鉛直線左側の外周側には照射装置9が、また同右側の外周側には受光装置11が対称配置されている。

【0015】光照射装置9は所定波長のレーザ光を出力するレーザ光源13と、レーザ光源13からのレーザ光を、半円筒プリズム7を透過してガラス基板3と金属薄膜5の境界において所定の領域幅に収束させる光学レンズ15とから構成される。

【0016】なお、前記境界に対するレーザ光の収束態様としては光学レンズ15により所定のビーム径に収束させてもよい。この場合にあっては、半円筒プリズム7の外周面に対して光照射装置9及び受光装置11を同期して互いに反対方向へ所定の角度幅で回転させる。

【0017】受光装置11はガラス基板3と金属薄膜5の境界から反射したレーザ光を平行光に形成する光学レンズ17と、多数の受光素子19aがSPR角の検出分解能に応じた間隔で配列されたフォトダイオードアレイやCCD等の受光部材19とから構成される。これにより夫々の受光素子19aは反射角度に応じたレーザ光を受光して光強度に応じた電気信号を出力する。

【0018】金属薄膜5の上面には、後述するセンサーチップ21が固定される。センサーチップ21の固定方法としては、センサーチップ21がハイドロカーボンにより製作される場合にはC-H基による化学的結合が適している。

【0019】金属薄膜5の上面にはセルブロック23が、マッチングオイルまたはシリコンゴムシート等を介して密着されている。セルブロック23における金属薄膜5の相対面にはフローセル25が形成され、該フローセル25の一方端部に応じたセルブロック23には供給流路部材27が、またフローセル25の他方端部に応じ

たセルブロック23には排出流路部材29が夫々設けられ、フローセル25内にて被検出物質を含んだ生体成分液22をフローさせる。

【0020】図4において、センサーチップ製造装置としてのプラズマ製膜装置31の反応容器33内には陽電極35及び陰電極37が所定の間隔をおいて相対配置され、これら陽電極35及び陰電極37には高圧直流電源装置39が接続される。そして両電極35・37間には0.5～3KVの直流電圧が印加される。

10 【0021】通常は陰電極37をアース接続し、陽電極35及び陰電極37間に(+)電位の直流電圧を印加するが、陽電極35をアース接続すると共に陰電極37を(-)電位に接続して両者間に(-)電位の直流電圧を印加してもよい。

【0022】反応容器33には真空排気装置41が接続され、反応容器33内を 1.3×10^{-4} Pa以下の高真空に形成する。そして反応容器33の一部には原料ガス導入部43が設けられ、原料ガス導入部43を介して反応容器33内に、例えばオスミウムガス、ハイドロカーボンガス等の有機化合物または無機化合物からなる原料ガスを供給する。そして原料ガスが導入された反応容器33内のガス圧は真空排気装置41による排気量及び原料ガスの供給量を調整して約7.98～13.3 Paに設定される。

【0023】原料ガスとしては、上記したガスの他に金属化合物の金属としては、例えば周期率表の1族～VIII族の金属が利用可能で、金属単体または有機もしくは無機の金属化合物として使用する。

【0024】反応容器33内に対する原料ガスの供給方法としては、例えばメタンカーボンガスやエチレンガス等にあるは、これらのガスが圧縮充填されたガスボンベから直接供給する方法、または四酸化オスミウムのような昇華物質にあるは反応容器33内に投入して昇華させて供給する方法の何れであってもよい。

【0025】そして陰電極37の上面にはセンサーチップ21に形成されるチップ素材45が、ガラス板、シリコン板、セラミック板等の電気絶縁体47を介して載置される。電気絶縁体47はその高さが、チップ素材45を陽電極35及び陰電極37間に発生するグロー放電の負グロー層(陰電極37上面から1～5mm)内に位置するように設定される。また、チップ素材45は被検出物質としての、例えば蛋白質、DNA等の生体物質を凍結乾燥或いは熱乾燥して所定の形状を保っている。

【0026】上記チップ素材45は以下のようにしてセンサーチップ21に製造される。まず、陰電極37上に電気絶縁体47を介してチップ素材45をセットして負グロー層内に位置させた状態で真空排気装置41を駆動して反応容器33内を、例えば 1.3×10^{-4} Pa以下の高真空にし、反応容器33内から不純物を除去する。

50 【0027】次に、原料ガス導入部43から原料ガスを

導入して充填させる。このとき、真空排気装置41の排気量を弱めた状態で原料ガスを導入することにより反応容器33内における原料ガス圧が約1.33~13.3 Paになるように調整する。

【0028】この状態で、陽電極35及び陰電極37間に直流電圧を印加して両者間にグロー放電を発生させると、図5に示すように陽電極35及び陰電極37間における原料ガス中のオスミウム原子またはカーボン原子を(+)イオン化してプラズマ化させる。これにより

(+)イオン化したオスミウム原子またはカーボン原子が(-)電位の陰電極37側へ引き寄せられてチップ素材45の表面に付着して堆積し、オスミウム薄膜またはカーボン薄膜に形成される。

【0029】このとき、チップ素材45が負グロー層内に位置しているため、オスミウム原子またはカーボン原子はチップ素材45の周囲、特にアンダーカットになった面に対しても有効に回り込んで付着堆積し、表面全体に均一な厚さ(約10~500Å)の薄膜を形成する。

【0030】チップ素材45の表面に形成される薄膜の膜厚は、導入される原料ガス濃度(原料ガス圧)、陽電極35及び陰電極37間の印加電圧、印加電流及び時間等のパラメータにより決定されるが、通常は膜厚が1~50nmになるようにこれらのパラメータを適宜設定する。

【0031】次に、表面にオスミウム薄膜またはカーボン薄膜が製造されたチップ素材45を溶解液中に浸漬して溶解除去し、チップ素材45、即ち被検出物質の生体物質と一致する形状の凹部21aを有したオスミウム薄膜またはカーボン薄膜からなるセンサーチップ21に形成する。

【0032】次に、SPRバイオセンサー1による被検出物質の検出作用を説明する。先ず、供給流路部材27から緩衝液を供給してフローセル25内を緩衝液で満たす。この状態にて光照射装置9からレーザ光を、フローセル25の領域全体に照射し、ガラス基板3と金属薄膜5の境界からの反射レーザ光を受光装置11に受光させる。

【0033】そしてフローセル25内に緩衝液をフローさせた状態で測定したレーザ光入射角度毎の反射光強度が最も減衰するSPR角を、基準SPR角として記憶部材(図示せず)に記憶させる。

【0034】次に、図6に示すように供給流路部材27から緩衝液に代えて被検出物質を含んだ生体成分液を供給流路部材27から供給してフローセル25内をフローさせる。これにより生体成分液中に含まれた生体物質の内、検出しようとする被検出物質(説明の便宜上、被検出物質を記号△で示す)はセンサーチップ21の上面を通過する際に凹部21a内に嵌まり込んで固定されると共にそれ以外の非検出物質(説明の便宜上、非検出物質を記号○及び□で示す)は凹部21aに嵌まり込まずに

そのままフローして排出流路部材29から回収される。

【0035】このとき、凹部21aに被検出物質が嵌まり込んで固定されると、固定された被検出物質により金属膜表面近傍の誘電率が変化することによりSPR角が変動する。このSPR角の変動に基づいて生体成分液中における所望の被検出物質を検出する。他の検出例としては、単位時間当りにおけるSPR角の変化量に基づいて生体成分液中における被検出物質の濃度を測定することができる。

【0036】実施形態2

本実施形態のバイオセンサーは水晶振動子センサー71のセンサーチップ73を使用したことを特徴とする。

【0037】図7及び図8において、水晶振動子センサー71の水晶振動子75は固有振動数f0で振動する特性を有している。また、水晶振動子75の各面には第1及び第2電極板77・79が夫々成膜されている。そして水晶振動子75は絶縁基板81上にマッチングオイル、シリコンラバーシート等を介して密着固定されている。

【0038】また、水晶振動子75が固定された絶縁基板81上にはセルブロック83が、同様にマッチングオイル、シリコンラバーシート等を介して密着固定されている。セルブロック83は少なくとも水晶振動子75を収容する容量のフローセル85が形成され、該フローセル85の一方端部側のセルブロック83には生体成分液の供給流路部材87が、またフローセル85の他方端部側のセルブロック83にはフローセル85からオーバーフローした生体成分液を回収する排出流路部材89が夫々設けられている。

【0039】そしてフローセル85内に位置する水晶振動子75の第2電極板79上にはセンサーチップ73が固定される。センサーチップ73は実施形態1のセンサーチップ21と同様にプラズマ製膜原理により製造されるものであり、その詳細な説明を省略する。

【0040】次に、水晶振動子センサー71による被検出物質の検出作用を説明する。水晶振動子75自体の固有振動数f0は予め決定されているが、フローセル85内に生体成分液をフローした際の振動数は生体成分液の質量により固有振動数f0と異なる。このため、検出に先立って供給流路部材87からフローセル85内に緩衝液を供給し、フローセル85内に緩衝液が満たされた状態の振動数f1を測定する。

【0041】次に、フローセル85内から緩衝液を排出した後、被検出物質を含んだ生体成分液を供給流路部材87から供給すると共にフローセル85からオーバーフローした生体成分液を排出流路部材89を介して排出することによりフローセル85内にてフローさせる。

【0042】フローセル85内にて生体成分液がフローする際に、センサーチップ73の凹部73a内に生体成分液中の目的とする被検出物質が嵌まり込んで固定さ

7

れ、第2電極板79に固定されたセンサーチップ73の質量が増大し、水晶振動子75の振動数が f_1 から f_2 へ変移する。水晶振動子75の周波数変位 $\Delta f = f_2 - f_1$ に基づいて生体成分中の被検出物質を検出する。他の測定態様としては、単位時間当りの周波数変動に基づいて生体成分液中における被検出物質の濃度を測定する。

【0043】

【発明の効果】本発明は、生体成分液中の被検出物質を高い精度で検出することができる。また、繰返し検出することができ、検出コストを低減することができる。更に、検出過程における外部環境に影響されずに高精度に被検出物質を検出することができる。

【図面の簡単な説明】

10

*

* 【図1】SPRバイオセンサーの概略図である。

【図2】図1の箇所Aを拡大して示す説明図である。

【図3】センサーチップの拡大部分斜視図である。

【図4】センサーチップの製造装置を示す説明図である。

【図5】成膜状態を示す説明図である。

【図6】検出状態を示す説明図である。

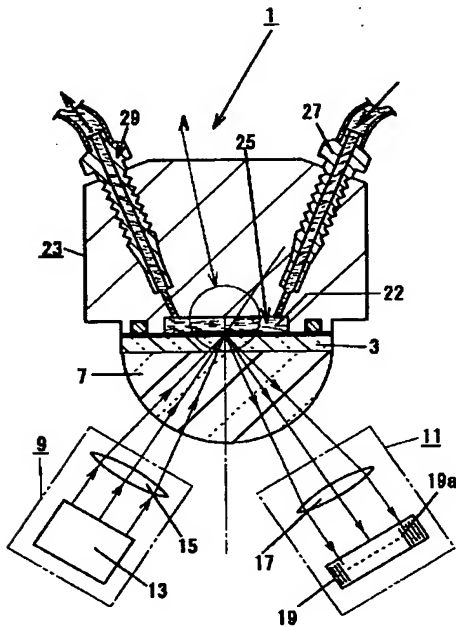
【図7】水晶振動子センサーの説明図である。

【図8】図7の箇所Bを拡大して示す説明図である。

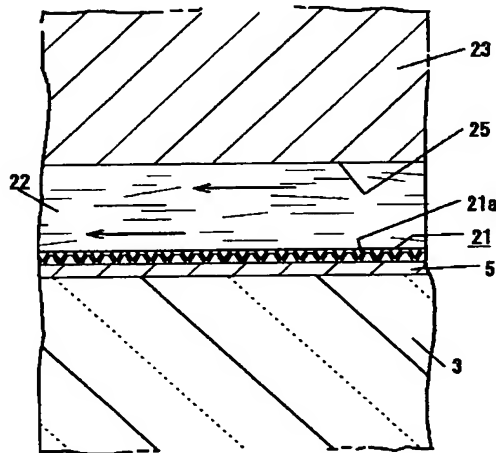
【符号の説明】

1-SPRバイオセンサー、21-センサーチップ、21a-凹部、33-反応容器、35-陽電極、37-陰電極、45-チップ素材

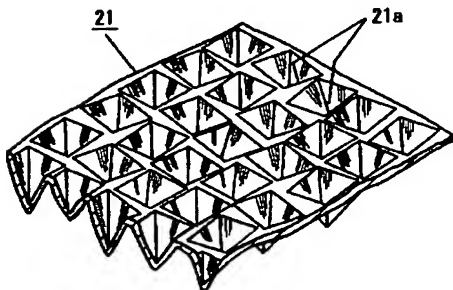
【図1】



【図2】

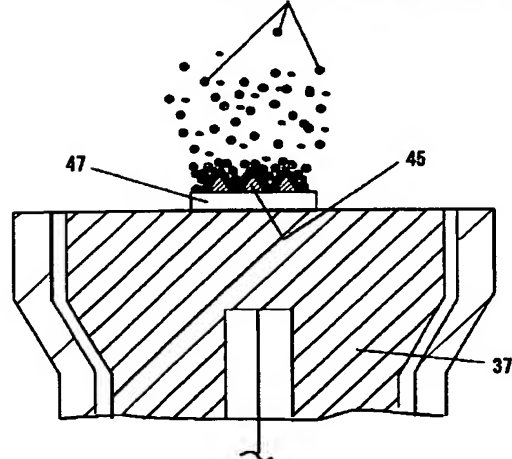


【図3】

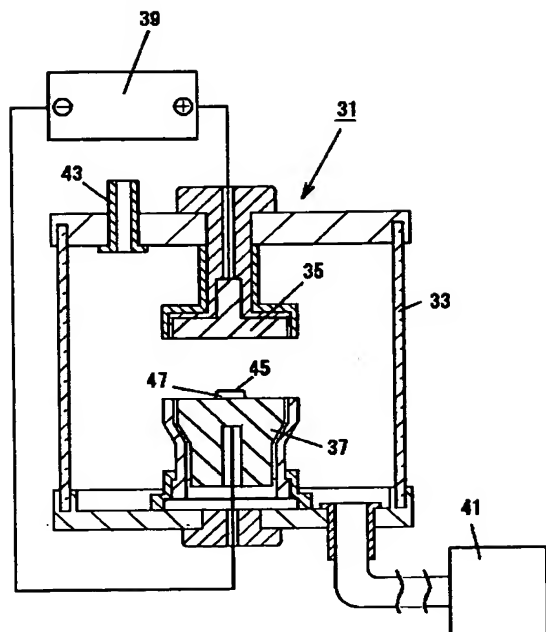


【図5】

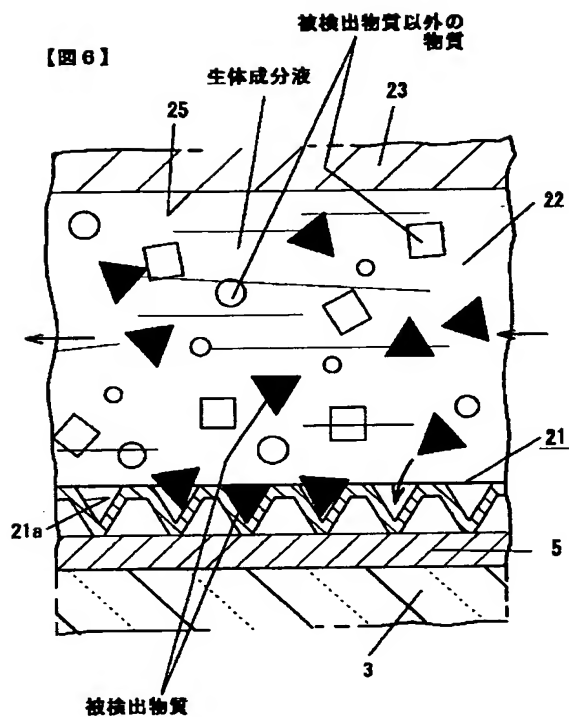
(+) イオン化した原料ガス分子



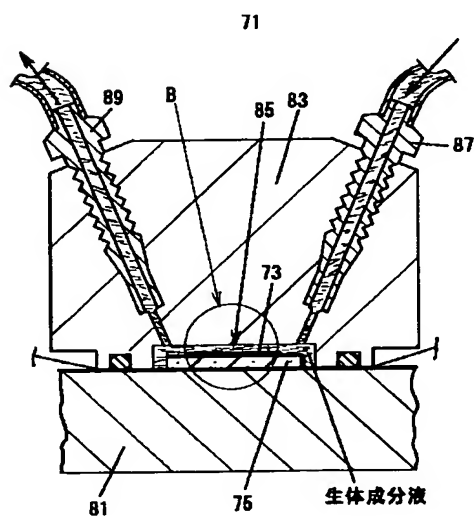
【図4】



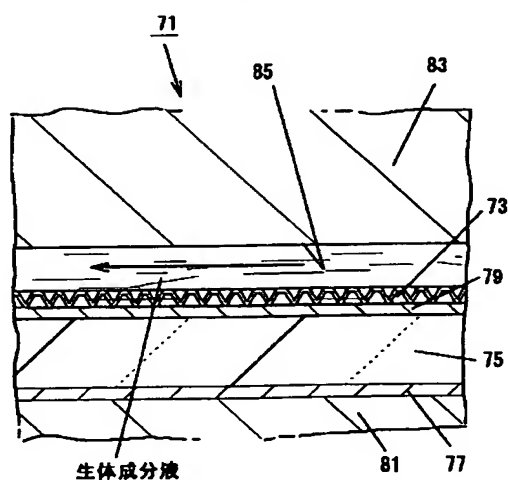
【図6】



【図7】



【図8】



フロントページの続き

(72)発明者 佐藤 高遠
 名古屋市熱田区三本松町20番9号 日本レ
 ーザ電子株式会社内

(7)

特開2002-122600

Fターム(参考) 2G057 AA02 AB04 AB07 AC01 BA05
DB05 DC07
2G059 AA05 BB12 CC16 DD12 DD13
EE02 FF06 GG01 JJ11 JJ12
KK04